

УДК 577.164.2

## С-ВИТАМИННАЯ ОБЕСПЕЧЕННОСТЬ ПО ДАННЫМ МГ-ЧАСОВОЙ ЭКСКРЕЦИИ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ У ЖЕНЩИН ДЕТОРОДНОГО ВОЗРАСТА

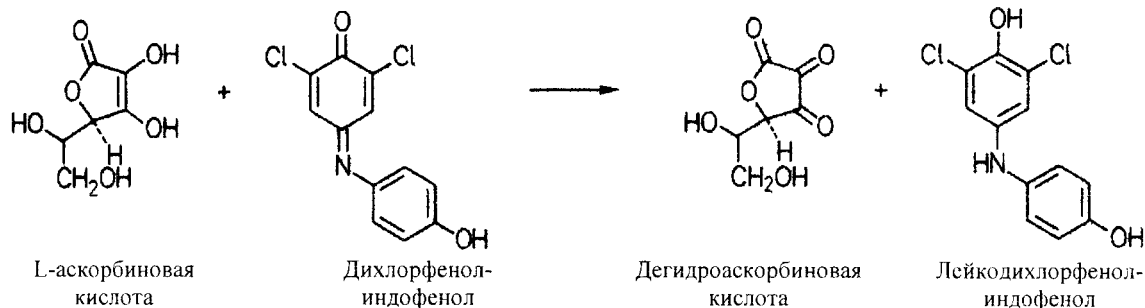
чл.-кор. НАН Беларуси, д-р биол. наук, проф. А.Г. МОЙСЕЕНОК,  
канд. биол. наук В.А. ГУРИНОВИЧ

(Институт биохимии НАН Беларуси, Гродно),

Е.А. МОЙСЕЕНОК, И.Л. ДОРОМЕЙЧИК, д-р мед. наук, проф. М.С. ОМЕЛЬНИК  
(Гродненский медицинский университет, Гродно)

С-витаминный статус связан с достаточно высоким употреблением в пищу продуктов, содержащих аскорбиновую кислоту, а также периодическим приемом витаминных препаратов. Прием последних является обязательным при курении беременных с нормальным и патологическим течением беременности, что находит отражение в увеличении показателей экскреции витамина С у обследованных 2-й и 3-й групп. Различия показателей 1-й и 3-й групп имеют высокую достоверность. Специальное исследование фактического питания женщин с нормальным и патологическим течением беременности с использованием расчетно-документального метода выявляет несбалансированный и нерациональный характер питания.

Определение С-витаминной обеспеченности является наиболее распространенным и доступным методом, характеризующим витаминный баланс организма. Этот метод предусматривает определение аскорбиновой кислоты (АК) в форме восстановленной АК или ее предварительное окисление с последующим образованием гидразона или флуорофора [1]. В практической витаминологии наиболее распространены колориметрические методы определения АК, обычно основанные на восстановлении 2,6-дихлорфенолиндофенола или образовании окрашенного динитрофенилгидразинового производного витамина. Если образование последнего возможно как с АК, так и с дегидро-АК (так называемой общей АК), то дихлорфенолиндофенол реагирует только с восстановленной АК [2]:



С конца 80-х – начала 90-х годов апробировались ферментативный и флуориметрический (комплекс дегидро-АК и о-фенилендиамина) методы определения витамина С, а также способ, основанный на образовании его комплекса с  $\alpha, \alpha'$ -дипиридилем (2,2'-бипиридин). Последний получил распространение в эпидемиологических исследованиях как простая и быстрая процедура, однако не использовался в СССР и СНГ. Параллельное развитие методологии на базе высокоэффективной жидкостной хроматографии, характеризующейся высокой специфичностью и чувствительностью, поставило вопрос о соответствии полученных результатов разными методами. Установлено, что определение АК в плазме крови с использованием динитрофенилгидразина, о-фенилендиамина или высокоэффективной жидкостной хроматографии дает практически идентичные результаты, тогда как колориметрические реакции с дипиридилем и дихлорфенолиндофенолом несколько завышают анализируемые величины. Вероятной причиной расхождения называют образование неспецифических комплексов с Д-изо-АК (D-Erythorbic acid) [3]. Несмотря на указанное обстоятельство, колориметрические методы анализа АК остаются методами выбора, особенно с учетом малодоступности необходимой хроматографической техники и адекватности задачам неинвазивного эпидемиологического исследования.

Существует определенная проблема в реализации неинвазивных исследований (моча, слюна, пот), связанная с подготовкой и консервированием проб перед проведением анализа. Все большее распространение получает исследование проб мочи, полученной натощак в утренней порции мочи или собранной на протяжении  $60 \pm 10$  мин, для определения так называемой мг-часовой экскреции витамина [1, 4]. При этом используется немедленная стабилизация АК путем добавления метафосфорной кислоты или быстрое ее охлаждение и замораживание при минус  $20^\circ\text{C}$ .

С целью сравнения результатов, получаемых способами определения АК посредством реакций с дихлорфенолиндофенолом и дипиридиллом нами проведено исследование на группах женщин детородного возраста или беременных с определением и последующим расчетом уровня экскреции витамина С в мг/ч и мг%.

**Методы исследований.** Обследовано 35 практически здоровых женщин в возрасте от 22 до 36 лет, а также 19 беременных женщин, находящихся в Гродненском роддоме, в том числе 6 в послеродовом периоде после нормального течения беременности и 13 с патологическим течением беременности (5 - после прерывания беременности по медико-генетическим показаниям, 8 - с задержкой внутриутробного развития плода или анемией беременных). У всех исследуемых женщин производилось анкетирование, и после мочеиспускания через  $60 \pm 10$  мин, отбиралась проба мочи, которая немедленно стабилизировалась добавлением равного (1,0 + 1,0 мл) количества 10 % раствора метафосфорной кислоты (для анализа с дихлорфенолиндофенолом) и (или) замораживалась при минус 20 °С (для анализа с дипиридиллом).

Исследования содержания АК в пробах мочи, стабилизированной метафосфорной кислотой, после 4-5 недельного хранения производили после их размораживания и центрифугирования, по лабораторной прописи, описанной в международном руководстве «Methods in Enzymology» [5]. Для проведения реакции с дипиридиллом к пробе мочи (0,4 мл) прибавляли 0,8 мл 5 % раствора трихлоруксусной кислоты и после центрифугирования (16000 г, 20 мин) вносили 85 %-ный раствор ортофосфорной кислоты, 0,5 %-ный раствор дипиридила и 1 %-ный раствор хлорного железа. Через 1 ч после образования цветного комплекса определяли светопоглощение при 525 нм [5, 6].

Полученные данные выражались в средней арифметической обследованных групп (М): 1-я - практически здоровые женщины; 2-я - нормальное течение беременности; 3-я - патологическое течение беременности ( $\pm$  ошибка средней арифметической т). Достоверность различий показателей оценивалась по критерию Стьюдента.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследований свидетельствуют о полной идентичности данных, полученных при исследовании мг-часовой экскреции витамина С двумя избранными методами (таблица). При этом выявлено существенное увеличение уровня аскорбинурии при беременности, особенно при ее патологическом течении.

Экскреция аскорбиновой кислоты с мочой здоровых и беременных женщин

Стабилизация, метод анализа	Величина	Группа		
		1-я	2-я	3-я
Метафосфорная кислота, реакция с дихлорфенолиндофенолом	мг/ч	1232 $\pm$ 101	2055 $\pm$ 674	2791 $\pm$ 460*
	мг%	3,23 $\pm$ 0,32	5,88 $\pm$ 1,65	8,86 $\pm$ 1,1*
Замораживание, ортофосфорная кислота, реакция с дипиридиллом	мг/ч	1233 $\pm$ 100	2012 $\pm$ 552	2740 $\pm$ 407*
	мг%	3,23 $\pm$ 0,31	5,87 $\pm$ 1,66	8,9 $\pm$ 1,08*

\* - коэффициент достоверности различий ( $p < 0,01$ ) относительно 1-й группы.

Аналогичные данные получили при пересчете лабораторных данных в концентрационную величину экскреции. Как известно, недостаточность витамина С, выявленная по содержанию АК в плазме крови и уровню ее экскреции, характерна для населения стран с переходной экономикой. Величина мг-часовой экскреции АК при нормальной обеспеченности организма превышает 0,4 мг/ч [7] и колеблется в пределах 0,8 - 2,0 мг/ч или 0,7 - 1,0 мг/ч [1].

Величина концентрации АК в моче при адекватном уровне ее потребления составляет 1,6 - 5,0 мг%, и по наблюдениям белорусских исследователей на студентах, характеризуется низким уровнем (до 53,5 % от нормальной обеспеченности) [8]. Более ранние исследования в Беларуси, проведенные в летне-осенний и зимне-весенний периоды, установили, что практически здоровые лица экскретируют витамин С в пределах 0,43 - 0,67 мг/ч [9].

С учетом вышеуказанных данных можно сделать заключение, что обследованные женщины детородного возраста имеют удовлетворительный С-витаминный статус, который (судя по данным анкетирования) связан с достаточно высоким употреблением в пищу продуктов, содержащих АК, а также периодическим приемом витаминных препаратов. Прием последних является обязательным при курении беременных с нормальным и патологическим течением беременности, что находит отражение в увеличении показателей экскреции витамина С у обследованных 2-й и 3-й групп. Различия показателей 1-й и 3-й групп высокодостоверны. Специальное исследование фактического питания женщин с нормальным и патологическим течением беременности с использованием расчетно-документального метода выявляет несба-

лансированный и нерациональный характер питания. Однако в суточном рационе женщины потребляли витамина С в количестве  $58,48 \pm 4,68$  мг (контроль),  $117,00 \pm 4,74$  (беременность, нормальное течение),  $125,84 \pm 10,90$  мг (патология беременности).

Существует точка зрения, что показатели аскорбинурии отражают процессы перераспределения эндогенного фонда витамина С при беременности, формирования своеобразного «витаминного депо» для растущего организма [3, 10], а в более широком смысле - характеризуют витаминный ресурс организма [4, 7, 8]. С этой точки зрения показатели экскреции АК применимы для оценки скрытых гиповитаминозных состояний и неадекватной витаминной обеспеченности (спортивная медицина), особенно при использовании так называемого нагрузочного метода (100 - 500 мг/сут) [10].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Микалаускайте Д.А. Витамин С // Методы оценки и контроля витаминной обеспеченности населения / Ред. В.Б. Спиричев. - М.: Наука, 1984. - С. 103-111.
2. Isler O., Brubaker G., Kiss J. Vitamin C // Vitamine II. Wasserlosliche Vitamine. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1988.-P. 396-444.
3. Sauberlich H.E. Ascorbic acid // Present knowledge in nutrition. Washington, International Life Sciences Institute-Nutrition Foundation - 1990. -P. 132- 141.
4. Шилов П.И., Яковлев Т.Н. Основы клинической витаминологии. - Л.: Медицина, 1974. - 343 с.
5. Omaye S.T., Turnbull J.D., Sauberlich H.E. Selected methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues, and fluids // Meth. Enzymol. - 1979. - V. 62. - P. 1 - 11.
6. A rapid micromethod for the determination of ascorbic acid in plasma and tissues / V. Zannoni, M. Lynch, S. Goldstein, P. Sato // Biochemical Medicine. - 1974. - V. 11. - P. 41 - 48.
7. Коденцова В.М. Разработка системы биохимических критериев оценки обеспеченности организма человека витаминами группы В: Автореф. дис.... д-ра биол. наук. - М., 1996. - 38 с.
8. Морозкина Т.С., Мойсеенок А.Г. Витамины. Краткое руководство для врачей и студентов медицинских, фармацевтических и биологических специальностей. - Мн.: Асар, 2002. - 112 с.
9. Комар В.И., Васильев В.С., Мойсеенок А.Г. Водорастворимые витамины в инфекционной патологии. - Мн.: Наука и техника, 1991. - 208 с.
10. Богатырева Е.В., Саридзе Э.Х., Морозкина Т.С. Необходимость пересмотра норм суточной потребности в витамине С для юношества // Питание и обмен веществ: Сб. науч. ст. Вып. 2 / Ред. А.Г. Мойсеенок. - Гродно, 2003. - С. 26 - 29.